

刘镛钺, 程子龙, 陈益, 等. 不同基因型牛病毒性腹泻病毒对 BALB/c 小鼠致病性研究 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (4): 72-77.

LIU D Y, CHENG Z L, CHEN Y, et al. Pathogenicity of different genotypes of bovine viral diarrhea virus on BALB/c mice [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (4): 72-77.

不同基因型牛病毒性腹泻病毒对 BALB/c 小鼠致病性研究

刘镛钺^{1,2}, 程子龙², 陈益², 陈思宇², 李文良², 毛立²,
杨蕾蕾², 孙敏², 张纹纹², 熊富强^{1,3*}, 刘茂军^{2,4*}

(1. 西藏农牧学院动物科学学院, 西藏 林芝 860000;

2. 江苏省农业科学院兽医研究所/农业农村部兽用生物制品工程技术重点实验室, 江苏 南京 210014;

3. 南京农业大学动物医学院, 江苏 南京 210095;

4. 兽用生物制品(泰州) 国泰技术创新中心, 江苏 泰州 225300)

摘要: 牛病毒性腹泻病毒 (BVDV) 是危害养牛业的重要病原。2021 年本实验室从患有肺炎的牛肺中分离出 1 株 BVDV (毒株编号为 JS2201), 经鉴定为 1b 亚型。为了评价该分离株的毒力与致病性, 分别建立了分离株与参考株 BVDV-1 型 Oregon C24V 株、BVDV-2 型 C1602 株 BVDV 感染 BALB/c 小鼠模型, 通过检测攻毒后小鼠临床症状、体重变化、病毒血症情况、血液中白细胞与淋巴细胞的变化、组织器官的病理组织学变化及病毒载量, 比较了分离株 JS2201 与 1 型和 2 型参考株的致病性差异。结果显示: BVDV 分离株 JS2201 与参考株均能够成功感染 BALB/c 小鼠, 攻毒 BALB/c 小鼠均形成病毒血症, 导致血液中白细胞数量、淋巴细胞数量以及淋巴细胞百分比短暂下降; BVDV 分离株 JS2201 株攻毒组小鼠肝脏、肾脏、脾脏中 BVDV 载量要高于 C24V、C1602 株攻毒组; 攻毒组小鼠均表现为间质性肺炎病变, JS2201 株攻毒组与 1 型参考株 C24V 株攻毒组小鼠脾脏病理组织学变化相似, BVDV-2 型参考株 C1602 株攻毒组小鼠脾脏病变更为严重。综上, 本研究成功建立了不同亚型 BVDV 急性感染 BALB/c 小鼠的模型, 且比较分析了分离株与参考株之间的致病性差异, 为 BVDV 疫苗的研制以及致病机制的研究奠定了基础。

关键词: 牛病毒性腹泻病毒; BALB/c 小鼠; 致病性; 基因型

中图分类号: S855 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-5130(2024)04-0072-06

Pathogenicity of different genotypes of bovine viral diarrhea virus on BALB/c mice

LIU Diyu^{1,2}, CHENG Zilong², CHEN Yi², CHEN Siyu², LI Wenliang², MAO Li²,
YANG Leilei², SUN Min², ZHANG Wenwen², XIONG Fuqiang^{1,3*}, LIU Maojun^{2,4*}

(1. College of Animal Sciences, Tibet Agriculture and Animal Husbandry College, Linzhi 860000, China;

2. Key Laboratory of Veterinary Bioproducts Engineering Technology, Department of Agriculture and Rural Affairs/Institute of Veterinary Medicine, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China;

3. College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

4. Guotai Technology Innovation Center for Veterinary Bioproducts (Taizhou), Taizhou 225300, China)

Abstract: Bovine viral diarrhea virus (BVDV) is an important pathogen that endangers the cattle industry, and it causes huge economic losses to the world's cattle industry. With the increase of international trade, the cattle have been transported frequently, BVDV strains continue to mutate, and new gene subtypes continue to appear. In 2021, our laboratory isolated a BVDV (JS2201) from bovine lung with pneumonia. In order to evaluate the virulence and pathogenicity of the BVDV isolate in our laboratory, we established respective BALB/c mice models infected with the BVDV isolated strain, the BVDV-1 type Oregon C24V reference strain, and BVDV-2 type C1602. By observing and detecting the clinical symptoms, weight changes, viremia, changes in white blood cells and lymphocytes in different groups of mice after challenge, the histopathological changes and viral load of various tissues and organs were compared. The results showed that both the BVDV

收稿日期: 2023-04-03; 修回日期: 2024-01-08

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2022YFD1800603)

第一作者: 刘镛钺, 男, 硕士研究生

* 通信作者: 刘茂军, 研究员, 主要从事牛羊疫病方面的研究, E-mail: maojunliu@163.com; 熊富强, 副教授, 主要从事动物传染病方面的研究, E-mail: xiongfurqiang@njau.edu.cn.

isolate JS2201 and the reference strain were able to infect BALB/c mice successfully, and the infected BALB/c mice developed viremia, resulting in a temporary decrease in the number of white blood cells, lymphocytes and percentage of lymphocytes in the blood. The BVDV loads in the liver, kidney, lung and spleen of the mice infected with the BVDV isolate JS2201 strain were higher than those in the C24V and C1602 infected groups. All mice in the challenged group showed interstitial pneumonia. The pathological changes of lung in the challenged group of the JS2201 strain, and the reference strain C24V of type 1 strain were similar. The lung disease in the challenged group of the BVDV reference strain C1602 strain got more severe. In this study, the model of acute infection of BALB/c mice with different subtypes of BVDV was successfully established, and the pathogenicity difference between the isolated strain and the reference strain were compared and analyzed; which laid the foundation for the development of BVDV vaccines and the study of their pathogenesis.

Keywords: bovine viral diarrhea virus; BALB/c mice; pathogenicity; genotype

牛病毒性腹泻病毒 (bovine viral diarrhea virus, BVDV) 可以引起牛、羊等多种反刍动物发生病毒性腹泻, 该病在世界范围内广泛分布, BVDV 自然感染对象主要是奶牛和黄牛, 也可感染牦牛、山羊、绵羊和猪等^[1]。感染 BVDV 的牛主要表现为腹泻、消化道黏膜糜烂、产奶量下降、持续性感染、呼吸综合征等^[2], 怀孕母牛会发生流产、胎儿畸形、木乃伊胎、死胎、繁殖力下降等繁殖障碍^[3], 病牛不仅表现出严重的临床症状, 也会出现免疫力下降, 从而继发感染其他病原或与其他病原共感染^[4], 使患病牛发病率和死亡率大大增加。近年来 BVDV 感染呈上升趋势, 给养牛业造成严重的经济损失^[5]。

BVDV 是黄病毒科瘟病毒属的成员之一, 是有囊膜的单股正链 RNA 病毒, 基因组大小约为 12.5 kb^[3]。根据 5'-非翻译区 (5'-UTR) 以及 N^{pro}、E2 基因序列的遗传进化关系, 将 BVDV 分为基因 1 型 (BVDV-1) 和基因 2 型 (BVDV-2), 目前已鉴定出 BVDV-1 至少有 22 个基因亚型 (1a~1v)、BVDV-2 有 4 个基因亚型 (2a~2d)^[6-7]。根据体外培养是否可以导致细胞病变分为致细胞病变型 (cytopathic, CP) 和非致细胞病变型 (noncytopathic, NCP) 2 种生物型, 在临床中主要分离到的毒株类型是 NCP 型 BVDV^[8-9]。BVDV 各基因型与基因亚型毒株在抗原性、毒力和致病性等方面存在一定的差异^[10], 且仅存在部分交叉保护。随着国际贸易的增加, 牛频繁调运, BVDV 毒株持续变异, 新的基因亚型不断出现。

BVDV 感染动物模型的建立一直备受关注, 多位学者分别通过不同的感染途径感染新西兰白兔、BALB/c 小鼠, 探索了 BVDV 感染的动物模型, 证实 BVDV 可感染新西兰白兔和 BALB/c 小鼠, 可引起病毒血症, 均无明显症状^[11-14]。不同 BVDV 基因型之间的致病性差异尚不清楚, 本研究利用腹腔注射的方式, 分别用本试验分离株 JS2201 与参考株 C24V、C1602 建立 BALB/c 小鼠感染模型, 系统地比较了 BVDV-1 型和 BVDV-2 型之间的致病性差异, 并对目前华东地区分离的流行株致病性进行了分析, 为 BVDV 疫苗的开发以及致病机制的研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 细胞、病毒与实验动物

MDBK 细胞 (牛肾细胞) 购自美国模式菌种收集中心 (ATCC), 由本实验室传代保存, 经检测 BVDV、支原体阴性。BVDV-1 型 Oregon C24V 株和 BVDV-2 型 C1602 株均由本实验室保存, JS2201 株 (GenBank: OP856581) 为本实验室 2022 年从江苏病死牛的肺脏中分离到的毒株, 为 BVDV-1b 亚型。SPF 级雌性 BALB/c 小鼠 (体重 18~22 g) 购自扬州大学比较医学中心。

1.2 主要试剂

DMEM 培养基和胎牛血清 (FCS) 为 Gibco 公司产品, 经检测 BVDV、支原体病原阴性, BVDV 抗体阴性。TRIzol 购自 TaKaRa 公司。一步法 qRT-PCR 试剂盒, 购自北京全式金生物技术有限公司。

1.3 BVDV 病毒液制备

将生长良好的 MDBK 单层细胞, 倒掉培养细胞的培养基, 加入 PBS 至细胞瓶, 轻轻摇晃, 倒掉细胞瓶中液体, 重复操作 3 次, 按 1% 的比例分别加入纯化后的 BVDV-1 型分离株 JS2201 株、BVDV-2 型分离株 C1602 和标准株 Oregon C24V, 加入 2 mL 制备的细胞维持溶液 (2% 胎牛血清 DMEM), 轻轻摇晃细胞瓶中的维持溶液, 直到细胞瓶完全覆盖, 并将其置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中 2 h 后, 丢弃细胞瓶中的液体, 用移液管吸收剩余的液体, 然后加入 10 mL 相同浓度的维持溶液, 并将其置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中进行培养。攻毒完成后, 每天通过倒置显微镜观察细胞的生长情况。培养 2~3 d 后, 当细胞损伤约 80% 时收获病毒溶液。将细胞培养物置于 -80 °C 冷冻。重复冷冻和解冻 3 次后, 收获病毒溶液 20 mL, 分装保存于 -80 °C 冰箱。

1.4 半数组织细胞感染剂量 (TCID₅₀) 的测定

将生长良好的单层 MDBK 细胞, 用胰酶消化制备成细胞悬液, 使细胞量达到 2×10⁵~3×10⁵ 个/mL, 将其加入至 96 孔细胞板, 每孔 100 μL, 将其置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中过夜培养。将培养好的 3 株

BVDV 进行 RT-PCR 鉴定后^[13]，分别用无抗无血清的 DMEM 将病毒液按照 10 倍倍比稀释，从 10^{-1} 稀释到 10^{-8} ，将稀释好的病毒液加入到细胞长至 80% 左右的 96 孔板中，每孔 100 μL ，每个稀释度做 8 个重复孔，并设置阴性对照孔（加入 100 μL 无抗无血清 DMEM），将细胞培养板放置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中；接毒 1 h 后，弃掉病毒液，每孔加入 100 μL 含 2% FBS 的 DMEM 维持液，将细胞培养板放置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养 120 h；通过观察并记录细胞病变孔或者间接免疫荧光记录细胞感染孔，按照 Reed-Muench 法分别计算 Oregon C24V、JS2201、C1602 株 BVDV 的 TCID_{50} 。

1.5 BALB/c 小鼠的致病性试验

将 24 只 BALB/c 小鼠随机分为 4 组，分别为 JS2201 组、C1602 组、C24V 组和对对照组，每组 6 只。适应 3 d 消除应激后，JS2201 组、C1602 组、C24V 组小鼠每只经腹腔注射 1 mL 相应病毒液，浓度分别为 $10^{4.5}/0.1 \text{ mL}$ ， $10^{4.33}/0.1 \text{ mL}$ 和 $10^{3.5}/0.1 \text{ mL}$ 进行攻毒，对照组每只注射 1 mL MDBK 细胞上清液，每天观察记录小鼠的临床症状，及时剖检死亡小鼠，并观察记录剖检病变情况，及时采取样品。

分别于感染 0、3、7 和 10 d 测定小鼠体重，感染后 3、7 和 10 d 每组各随机选择 3 只小鼠，通过眼眶采集 EDTA 抗凝血，用于病毒血症和血常规检测。于感染后的 7、10 d，各取 3 只小鼠的肺、脾、肾、肝等脏器组织，分别测定器官指数和病毒载量，并将肺脏和脾脏用 4% 多聚甲醛溶液固定后用于病理组织切片制作。

1.6 小鼠血常规检测与病理组织学观察

采集的小鼠血液送南京金域医学检验所进行血常规检测，主要包括白细胞、淋巴细胞及血小板等血细胞计数。小鼠各组织样品经 4% 多聚甲醛固后送南京烁朴生物科技有限公司进行组织病理学检查。

1.7 荧光定量 PCR (RT-qPCR) 检测

各组织样品经研磨、反复冻融后，12 000 r/min 离心 10 min，取上清液。采用 TRIzol 法提取血液及各脏器组织悬液中的 RNA，利用本实验室建立的 RT-qPCR 方法检测各样品中的 BVDV 载量。BVDV-F: 5'-GTGCTGAGTTCGTTGGATGG-3'，BVDV-R: 5'-GGCTGTATTTCGTAGCAGTTGAT-3'。反应程序：50 $^{\circ}\text{C}$ 5 min，94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s；94 $^{\circ}\text{C}$ 5 s，60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s，40 个循环。

1.8 数据分析

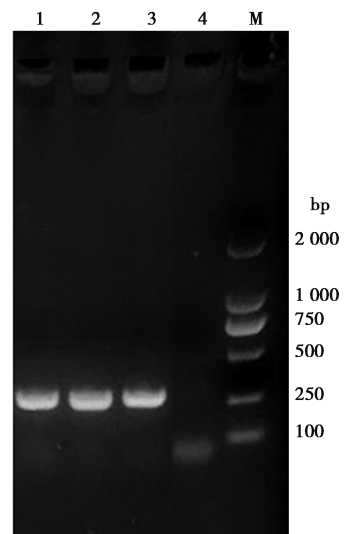
每个试验均独立重复 3 次，测定病毒载量（用 Ct 值换算出拷贝数）。用 GraphPad Prism 8.0 软件对试验数据作图及统计分析，并对检测结果进行单因素

方差分析， $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 BVDV 鉴定及其 TCID_{50} 测定

通过 BVDV 5'UTR 片段特异性引物对 3 种毒株进行 RT-PCR 鉴定，结果在 288 bp 处出现目的条带（图 1），大小与预期相符。进一步对扩增产物胶回收、克隆至 T 载体并进行测序，确定所用毒株均为 BVDV。通过测定，JS2201、C1602 和 Oregon C24V 株的 TCID_{50} 分别为 $10^{-4.5}/0.1 \text{ mL}$ 、 $10^{-4.33}/0.1 \text{ mL}$ 和 $10^{-3.5}/0.1 \text{ mL}$ 。



1. JS2201 株；2. C1602 株；3. Oregon C24V 株；4. 阴性对照；M. DL2000 DNA Marker。

图 1 BVDV 毒株 PCR 鉴定

2.2 小鼠的体重变化以及临床症状

通过腹腔注射分别感染 3 种毒株的小鼠以及对照组小鼠均未表现出明显临床症状。在感染后 0~10 d，攻毒组小鼠与对照组小鼠相比体重差异不显著（图 2），表明 BVDV 感染对小鼠体重无明显影响。

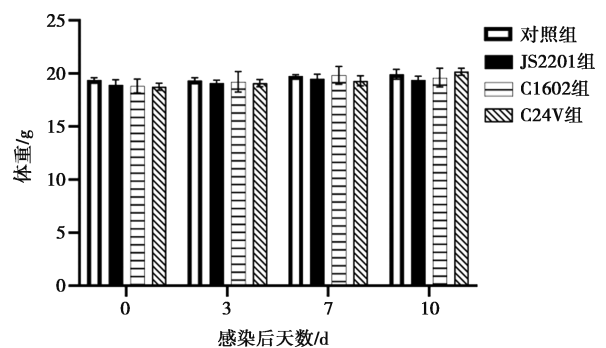


图 2 攻毒后 BALB/c 小鼠体重变化

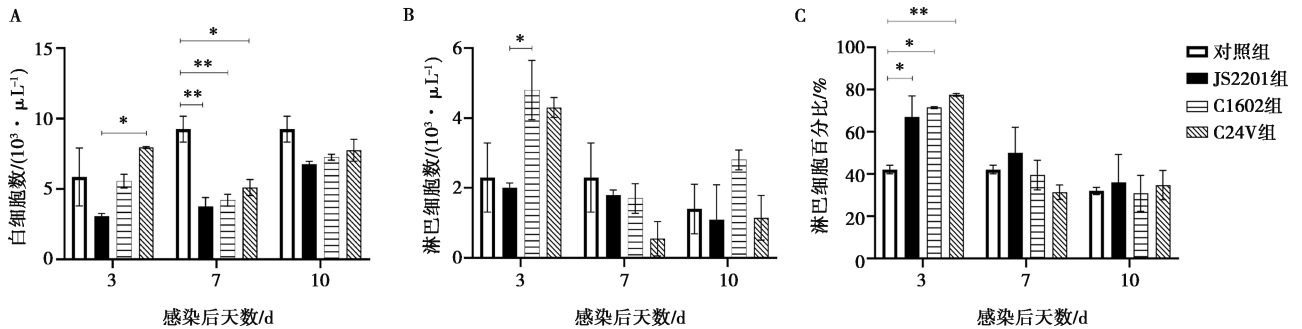
2.3 攻毒后外周血白细胞、淋巴细胞检测

分别于攻毒后的第3、7和10天采集血液进行血常规测定,结果显示:小鼠血液中白细胞数量,在攻毒后第3天C24V组比对照组高,但差异不显著($P>0.05$);JS2201组与C1602组均比对照组低,但差异不显著($P>0.05$);JS2201组则显著低于C24V组($P<0.05$)。在攻毒后第7天,3组攻毒小鼠白细胞数量均出现下降,且攻毒组均显著低于对照组($P<0.05$)。攻毒后第10天,3组攻毒小鼠白细胞数量均有所恢复,但仍低于对照组,差异不显著($P>0.05$) (图3A)。

血液中的淋巴细胞数量在攻毒后第3天,

C1602、C24V组高于对照组;JS2201组低于对照组,但差异均不显著($P>0.05$);C1602组显著高于JS2201组($P<0.05$)。在攻毒后第7天,3组攻毒小鼠淋巴细胞数量降低,并低于对照组,但差异不显著($P>0.05$)。攻毒后第10天,JS2201组与C24V组淋巴细胞数量仍低于对照组,C1602组高于对照组,但差异均不显著($P>0.05$) (图3B)。

小鼠淋巴细胞百分比在攻毒后第3天,3个攻毒组均显著高于对照组($P<0.05$)。在攻毒后第7天和第10天,攻毒组淋巴细胞百分比持续下降,与对照组相比差异不显著($P>0.05$) (图3C)。



注: *表示 $P<0.05$, **表示 $P<0.01$, 下同。

图3 感染 BVDV 后小鼠体内白细胞数 (A)、淋巴细胞数 (B) 和淋巴细胞百分比 (C)

2.4 剖检病变及病理组织学变化

在攻毒后第7、10天,每组分别随机安乐死3只小鼠,观察各组织器官病变情况。JS2201、C1602、C24V组小鼠在攻毒后第7、10天肺脏均出现轻微的

实变和充血,病变程度无明显差异,脾脏均无明显剖检病变,阴性对照组肺脏与脾脏均未观察到明显病变 (如图4)。

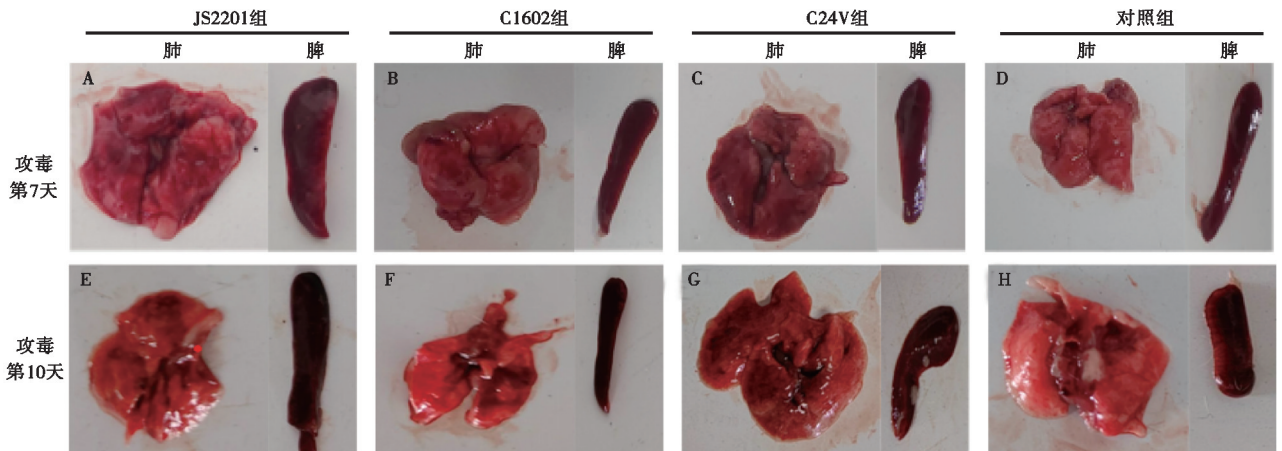


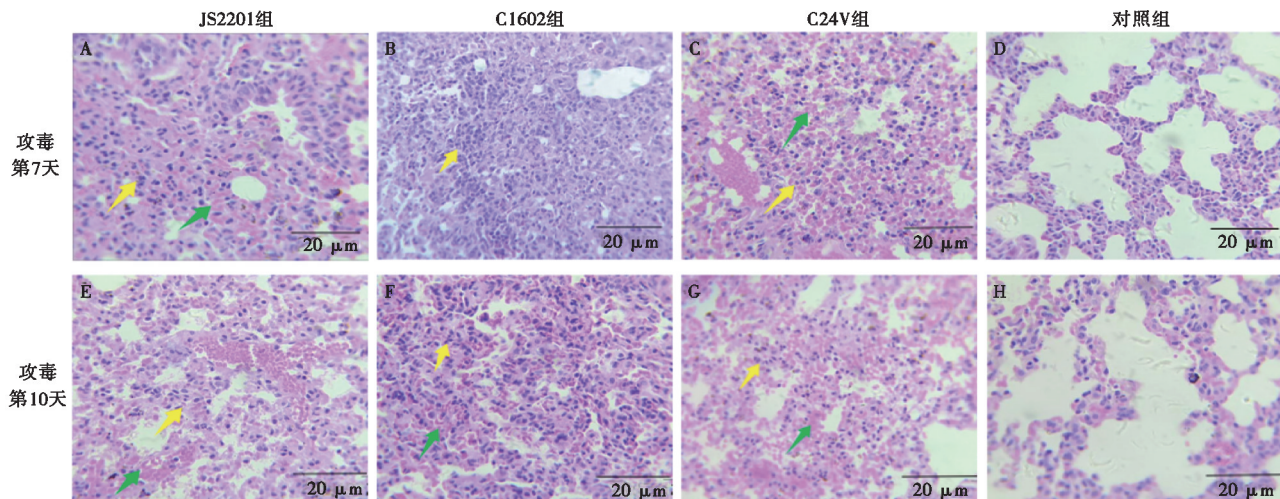
图4 攻毒后 BALB/c 小鼠肺脏、脾脏的剖检病变

组织病理学分析显示,JS2201、C1602、C24V株组小鼠在攻毒后第7、10天肺脏可见明显间质性肺炎病变,肺泡间隔明显增宽,肺泡壁及支气管周围可见

以淋巴细胞、巨噬细胞为主的炎性细胞浸润,肺泡壁毛细血管充血。其中 BVDV-2 型 C1602 株攻毒组小鼠肺脏 (图 5B、F) 相较于 JS2201 组 (图 5A、E)

和 C24V 组 (图 5C、G) 表现为更为严重的间质性肺炎, JS2201 组和 C24V 组小鼠肺泡壁毛细血管则表现为较为严重的充血变化, 而 JS2201 与 C24V 株组小

鼠肺脏病变差异不明显; 对照组小鼠肺脏无明显病理变化 (图 5D、H)。



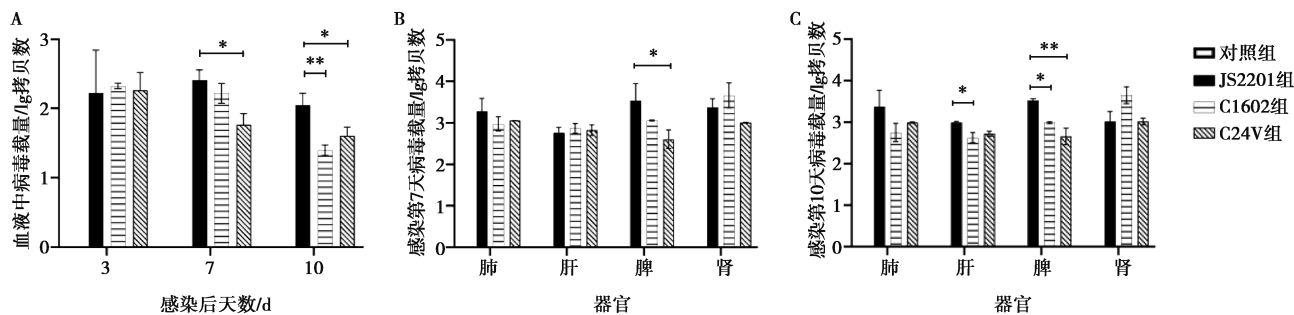
注: 黄色箭头为巨噬细胞、淋巴细胞等炎性细胞浸润、肺泡间隔变宽; 绿色箭头为肺泡壁毛细血管充血。

图 5 攻毒后 BALB/c 小鼠肺脏的病理组织学变化 (HE, 200×)

2.5 攻毒后 BALB/c 小鼠病毒血症以及各组织器官病毒载量检测

在攻毒后第 3、7 和 10 天分别采集各组小鼠血液, 在攻毒后第 7、10 天采集肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、血液等组织器官样品进行病毒载量的检测。结果显示, 对照组各组织器官样品都未检测到病毒; 各感染组在感染后第 3 天均出现病毒血症, 且持续到第 10 天仍能检测到; JS2201 组小鼠在攻毒后第 7、10 天血液中病毒含量显著高于 C1602 组和 C24V 组

($P < 0.05$) (图 6A)。在攻毒后第 7、10 天, 攻毒组小鼠肝脏、脾脏、肺脏、肾脏中均能检测到病毒, 在攻毒后第 7 天, JS2201 组小鼠脾脏病毒载量显著高于 C24V 组 ($P < 0.05$), 其余各组织病毒载量差异不显著 ($P > 0.05$) (图 6B); 在感染后第 10 天, JS2201 组肝脏、脾脏病毒载量显著高于 C1602 组 ($P < 0.05$), 肺脏、肾脏中病毒载量差异不显著 ($P > 0.05$) (图 6C)。



A. 攻毒后各组小鼠病毒血症情况; B、C. 攻毒后 7、10 d 各组小鼠组织器官病毒载量。

图 6 攻毒后小鼠病毒血症及各组织器官病毒载量

3 讨论

健康牛与其他持续感染牛之间的直接或间接接触被认为是 BVDV 原发感染或继发感染的主要来源,

由于其引起免疫抑制, 在养牛生产中已造成严重的经济损失。用小鼠等实验动物建立发病模型是研究牛病的重要手段。前期研究表明通过腹腔注射小鼠感染 BVDV 的成功率高于其他途径, 因此, 本研究选用腹

腔注射方法进行感染。先前有研究报道,感染 BVDV 的小鼠未出现临床症状^[15],但病毒血症的存在提供了小鼠感染 BVDV 的证据。在本次研究中, BALB/c 小鼠通过腹腔注射感染了 BVDV-1 型分离株、BVDV-2 型分离株和 Oregon C24V 标准毒株,小鼠也未观察到临床症状,但都出现了病毒血症,结果与之相似。在感染后第 7、10 天,小鼠剖检可观察到肺脏均出现轻微的实变和充血,不同毒株间病变程度无明显差异,脾脏均无明显剖检病变,阴性对照组肺脏与脾脏均未观察到明显病变,初步证明 BVDV 能够感染 BALB/c 小鼠,且能致其组织出现相应病变,但各毒株之间造成的肺脏剖检病变无明显差异。1 型、2 型 BVDV 均可成功感染 BALB/c 小鼠,均可形成病毒血症,且均可以在肝脏、脾脏、肺脏、肾脏中有效复制,但 BVDV JS2201 分离株在小鼠体内复制能力明显强于 C1602 株和 Oregon C24V 株。有研究报道,通过免疫组织化学方法在感染小鼠的脾脏中检测到 BVDV 抗原^[15],本研究采用 RT-qPCR 方法检测感染小鼠各组织中病毒载量,结果显示在肺、脾脏器中的病毒载量最高,与报道结果一致。

有研究表明,细胞病变型和非细胞病变型 BVDV 感染小鼠会导致淋巴细胞耗竭和脾脏中巨核细胞数量增加,以及血小板减少症和淋巴细胞减少症^[16-17],本研究结果与之相似;血常规结果显示,在感染后第 7 天时,与对照组相比,攻毒组白细胞显著下降,攻毒组淋巴细胞与对照组相比下降,但差异不显著;在感染后第 10 天时白细胞有所升高,但仍低于对照组;C1602 组淋巴细胞上升,高于对照组,JS2201 和 C24V 组仍低于对照组。

以上研究结果表明, BVDV-1 型和 BVDV-2 型分离株和参考株感染 BALB/c 小鼠后均可在其组织脏器中检测到 BVDV,且均能致其肺组织出现一定的病理损伤,与吴陈华等^[18]结果相似。总之,本研究通过腹腔注射的方式将 1 型、2 型和参考株 BVDV 感染 BALB/c 小鼠,根据临床症状和病理变化,血常规、病毒载量等结果,建立了不同亚型 BVDV 急性感染的小鼠模型,为进一步对 BVDV 的疫苗研制和致病机理等研究奠定了基础。

参考文献:

- [1] 付强. 牛病毒性腹泻病毒持续性感染的分子机制研究及其定点突变株的构建 [D]. 石河子: 石河子大学, 2015.
- [2] 王国超, 白鸽, 王选, 等. 牛病毒性腹泻-黏膜病研究概述 [J]. 动物医学进展, 2016, 37 (10): 108-111.
- [3] KHODAKARAM-TAFTI A, FARJANIKISH G H. Persistent bovine viral diarrhea virus (BVDV) infection in cattle herds [J]. Iran J Vet Res, 2017, 18 (3): 154-163.
- [4] BELL R L, TURKINGTON H L, COSBY S L. The bacterial and viral agents of BRDC: immune evasion and vaccine developments [J]. Vaccines (Basel), 2021, 9 (4): 337.
- [5] 郭启勇, 柳国锁, 黄海碧, 等. 规模化奶牛场牛病毒性腹泻流行病学调查与防控 [J]. 畜牧与兽医, 2020, 52 (12): 132-135.
- [6] QUINTERO B J, CORREDOR FA P, SALAS S S, et al. High prevalence of persistently infected animals from bovine viral diarrhea in Colombian cattle [J]. BMC Vet Res, 2019, 15 (1): 23.
- [7] 舒鑫, 董心仪, 毛立, 等. 2 株牛病毒性腹泻病毒基因 2 型的分离鉴定 [J]. 畜牧与兽医, 2018, 50 (10): 105-109.
- [8] REICHEL M P, LANYON S R, HILL F I. Perspectives on current challenges and opportunities for bovine viral diarrhea virus eradication in Australia and New Zealand [J]. Pathogens, 2018, 7 (1): 14.
- [9] RIDPATH J F. BVDV genotypes and biotypes: practical implications for diagnosis and control [J]. Biologicals, 2003, 31 (2): 127-131.
- [10] BACHOFEN C, GRANT D M, WILLOUGHBY K, et al. Experimental infection of rabbits with bovine viral diarrhoea virus by a natural route of exposure [J]. Vet Res, 2014, 45 (1): 34-41.
- [11] HAN Y J, KWON Y J, LEE K H, et al. Experimental infection with non-cytopathic bovine viral diarrhea virus 1 in mice induces inflammatory cell infiltration in the spleen [J]. Arch Virol, 2016, 161 (9): 2527-2535.
- [12] 李彩虹, 何文, 王怀禹. 牛病毒性腹泻病毒四川株 SC 的分离鉴定及其生物学特性分析 [J]. 畜牧与兽医, 2017, 49 (1): 75-79.
- [13] 钟发刚, 田晶华. 牛病毒性腹泻病毒在绵羊垂直感染中的抗原分布 [J]. 中国预防兽医学, 2002, 24 (4): 260-263.
- [14] 阮文强. 两株牦牛源 BVDV1 型对小鼠的致病性研究及灭活疫苗的初步制备 [D]. 成都: 西南民族大学, 2019.
- [15] HAN Y J, KWON Y J, LEE K H, et al. Experimental infection with non-cytopathic bovine viral diarrhea virus 1 in mice induces inflammatory cell infiltration in the spleen [J]. Arch Virol, 2016, 161 (9): 2527-2535.
- [16] SEONG G, OEM J K, LEE K H, et al. Experimental infection of mice with bovine viral diarrhea virus [J]. Arch Virol, 2015, 160 (6): 1565-1571.
- [17] WOOD R D, GOENS S D, CARMAN P S, et al. Effect on hematopoietic tissue of experimental infection of calves with noncytopathic type 2 bovine viral diarrhea virus [J]. Can J Vet Res, 2004, 68 (1): 42-48.
- [18] 吴陈华, 王丽娜, 岳山, 等. CP 和 NCP 型牛病毒性腹泻病毒腹腔注射小鼠感染模型的建立 [J]. 中国预防兽医学报, 2022, 44 (1): 28-33.